

А.В. ГЛУТКИН

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Республика Беларусь

Цель. Оценить изменения кислородтранспортной функции крови и свободнорадикальных процессов у крысят после моделирования термического ожога.

Материал и методы. Исследование выполнено на беспородных белых крысятах массой 55-65 г в возрасте 30 суток, $n=54$. Термический ожог кожи моделировали путем воздействия горячей жидкости (вода) температурой 99-100°C с помощью специально разработанного устройства в течение 10 сек (площадь травмы составила около 8-9 % от всей поверхности тела). В крови определяли газовые показатели и сродство гемоглобина к кислороду, оцениваемое по показателю $p50$ (pO_2 , при 50% насыщении гемоглобина кислородом). Также проводили забор тканей (легкое, печень, почка, сердце) для изучения показателей перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и антиоксидантной защиты (α -токоферол, каталаза) в тканях. Определение количества нитрат/нитритов в плазме крови проводили с помощью реактива Грисса.

Результаты. Термическая травма у крысят (30 суток) приводит к развитию гипоксии, судя по возникновению метаболического ацидоза и уменьшения значений pO_2 и SO_2 , а также повышению СГК на протяжении первых 14 суток, и затем его возвращение его к исходному значению. При этом развивается окислительный стресс, проявление которого уменьшается к 21-м суткам. Также наблюдается увеличение содержания нитрат/нитритов, отражая нарушения функционирования L-аргинин-NO системы, обуславливая изменения кислородсвязующих свойств крови и формируя прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о важной роли кислородзависимых процессов в патогенезе термической травмы, что не обходимо учитывать при разработке соответствующих мероприятий направленных на устранение нарушений данной патологии.

Ключевые слова: термический ожог, кислород, кровь, радикал, антиоксидант, оксид азота

Objectives. To evaluate oxygen-transport function of the blood and free radical processes after thermal skin injury in an infant rat model.

Methods. The study was conducted on outbred albino infant rats (55-65 g weight, 30 days age, $n=54$). Thermal injury of the skin was modeled by hot liquid (water) impact at temperature of 99-100°C using a specially designed device within 10 seconds (the zone of injury was about 8-9% of the body surface). The blood gas parameters as well as hemoglobin affinity for oxygen were determined according to $p50$ (pO_2 at 50% saturation of hemoglobin by oxygen). The sampling of tissues (lung, liver, kidney and heart) was performed to study lipid peroxidation (conjugated dienes, malondialdehyde) and antioxidant protection (α -tocopherol, catalase) in the tissues too. Determination of nitrate/nitrite concentration in the blood plasma was carried out using Griess reagent.

Results. Thermal injury in rats (30 days) leads to hypoxia based on the symptoms of metabolic acidosis and reduction of the pO_2 and SO_2 values as well as elevation of hemoglobin affinity for oxygen within the first 14 days and then return them to the primary values. In this case the oxidative stress has developed and its manifestation reduced to the 21st days. Also one observes an increase of nitrate/nitrite concentration, reflecting the dysfunction of L-arginine-NO system, causing changes of blood oxygen binding properties and forming prooxidant-antioxidant imbalance.

Conclusions. The conducted studies testify to an important role of the oxygen-dependent processes in the thermal injury pathogenesis which is necessary to take into consideration in developing of appropriate measures to eliminate this pathology.

Keywords: thermal burn, oxygen, blood, radical, antioxidant, nitric oxide

Novosti Khirurgii. 2013 Jul-Aug; Vol 21 (4): 16-24

Oxygen-transport function of blood and free radical processes at experimental modeling of the thermal burn
A.V. Hlutkin

Введение

Тяжелая термическая травма обуславливает изменение не только со стороны кожного покрова, но и приводит к системным нару-

шениям организма. Среди пострадавших от термических ожогов дети составляют около 10-20%, из них наиболее часто встречаемая возрастная группа — до 3-х лет [1]. Учитывая анатомо-физиологические особенности

данной возрастной группы, а именно незрелость защитных систем детского организма, ожоговые повреждения в нем протекают более тяжело, чем у взрослых. У детей раннего возраста в условиях длительного воздействия стресса происходит срыв адаптационных реакций, а у пациентов старшей возрастной группы компенсаторные возможности выражены в большей степени, что позволяет более адекватно реагировать на тяжелую ожоговую травму [2]. Тяжесть состояния в организме с термическими поражениями обусловлена нарушениями кислородного гомеостаза. Следствием нарушения функционирования системных механизмов транспорта кислорода является развитие тканевой гипоксии в связи с дисбалансом между величиной потребления кислорода организмом и его доставкой. Существенное уменьшение потребления кислорода на фоне повышенных потребностей в нем приводит к гипоксическому повреждению клеток и глубоким нарушениям метаболизма, которые являются ведущим патофизиологическим фактором развития тяжелых осложнений у обожженных.

В развитии метаболических нарушений у ожоговых пациентов играют важную роль свободнорадикальные процессы. Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) коррелирует с тяжестью состояния и зависит от выраженности гипоксии [3]. Исследование нарушений кислородзависимых механизмов в экспериментальной модели термического ожога у крысят важно для выяснения общих закономерностей патогенеза термической травмы с учетом возрастных особенностей.

Целью настоящего исследования является оценка изменения кислородтранспортной функции крови и свободнорадикальных процессов у крысят после моделирования термического ожога.

Материал и методы

Исследование выполнено на беспородных белых крысятах самцах массой 55-65 г в возрасте 30 суток, $n = 54$. Все животные содержались в одинаковых условиях вивария на стандартном пищевом режиме. Все этапы исследования проводились с разрешения комиссии по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет», с соблюдением этических норм, предусмотренных Европейской комиссией по надзору и проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

В условиях адекватного обезболивания

тиопенталом натрия (50 мг/кг), введенного внутривенно, производили удаление в области спины крысы шерсти (выстригание с последующим выбриванием). Термический ожог кожи моделировали путем воздействия горячей жидкости (вода) температурой 99-100°C с помощью специально разработанного устройства в течение 10 сек [4]. Площадь травмы составила около 8-9% от всей поверхности тела. Для расчета ее величины у крысы использовали формулу, предложенную К. Меех в модификации D.A. Gilpin [5]: $S = k \times W^{2/3}$, где S — площадь поверхности тела, см², W — масса тела животного, кг, k — константа Мехе (9,46). В результате проводимых манипуляций получали стандартные по площади (около 12 см²) и глубине ожоговые раны, защита которых от воздействия внешних факторов осуществляли с помощью специальной предохранительной камеры [6]. На 1-е, 3-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки (количество животных в каждой группе — 9) после моделирования термического ожога осуществляли забор смешанной венозной крови путем интракардиальной пункции (введение иглы по месту локализации верхушечного толчка). Забор крови производился предварительно подготовленным шприцом, содержащим гепарин (50 ЕД на 1 мл крови).

В крови определяли газовые показатели при температуре 37°C с помощью микрогазоанализатора "Synthesis-15" (Instrumentation Laboratory). Кислотно-основное состояние крови определялось на основе номограмм Siggaard-Andersen по следующим показателям: реальный и стандартный избыток буферных оснований (ABE/SBE), стандартный бикарбонат (SBE), концентрация гидрокарбоната (HCO_3^-), общей углекислоты (TCO_2), стандартного бикарбоната (SBC). Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) оценивалось по показателю $p50$ (pO_2 , при 50% насыщении гемоглобина кислородом), при реальных pH, pCO_2 , температуре, ($p50_{\text{реал}}$) и стандартных значениях ($p50_{\text{станд}}$) по формулам J.W. Severinghaus [7]. Ход кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) рассчитывали по полученным значениям $p50$, используя уравнение Хилла.

Также проводили забор тканей (легкое, печень, почка, сердце), которые хранили в жидком азоте. Для изучения процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ) в тканях размороженные образцы измельчали, гомогенизировали в десятикратном объеме 0,01 М К-фосфатного буфера (pH 7,4), содержащего 0,1 ммоль ЭДТА в гомогенизаторе WPW-30 (Польша) с тефлоновым пестиком (2000 об/мин, 10 циклов). Уровень диеновых

конъюгатов (ДК) измеряли на спектрофотометре «СФ-46» по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232-234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [8]. Концентрация малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрически по насыщенности окраски триметинового комплекса розового цвета при длине волны 540 нм [9]. Содержание α -токоферола определяли по методу S.L. Taylor, основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта на спектрофлуориметре «F-4010» (Hitachi) по при длине волны возбуждения 295 нм и эмиссии 326 нм [10]. Активность каталазы оценивалась по способности перекиси водорода образовывать с молибденовокислым аммонием (4-водный) стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре Solar PV 1251C [11]. Определение количества нитрат/нитритов в плазме крови проводили с помощью реактива Грисса (1% сульфаниламид, 0,1% нафтилендиамид, разведенные в 12% уксусной кислоте) [12].

Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы «Statistica 6.0» (Statsoft Inc, US). Нормальность распределения количественных признаков оценивали по критерию Шапиро-Уилка (W). При распределении, отличающемся от нормального, данные репрезентированы в виде: Me (25%-75%), где Me — медиана, (25%-75%) — (25 процентиль-75 процентиль). С учетом размеров малой выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок — U-критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса. Критический уровень статистической значимости принимали за $p < 0,05$.

Результаты

Характер изменения основных показателей кислотно-основного состояния крови у крысят после воспроизведения термического ожога приведены на рисунке 1. К концу 1-ых суток pH уменьшался с 7,351 (7,328; 7,386) до 7,252 (7,246; 7,259) ед. ($p < 0,001$), HCO_3^- с 24,3 (24,3; 25,6) до 20,6 (20,4; 20,7) ммоль/л ($p < 0,001$), АВЕ с -1,0 (-1,0; -0,9) до -6,3 (-6,3; -5,9) ммоль/л. Данные показатели несколько возрастали на 3-и, 7-ые, 14-ые сутки, но

продолжали быть достоверно сниженными по отношению к контролю. Полученные данные свидетельствуют о том, что термическая травма приводит к развитию декомпенсированного метаболического ацидоза. Наиболее выраженные изменения наблюдаются через сутки от термического воздействия.

Характер изменения основных показателей кислородтранспортной функции крови вследствие моделирования ожоговой травмы представлен в таблице 1. Отмечалось снижение величины pO_2 в 1-ые сутки на 27,0% ($p < 0,001$), в 3-и сутки на 24,3% ($p < 0,001$), в 7-ые сутки на 16,2% ($p < 0,01$), а на 14-ые и 21-ые сутки приближение к значению контрольной группы. Показатель SO_2 на протяжении всего эксперимента оставался сниженным во всех группах по отношению к контролю. Максимально его значение уменьшалось в 1-ые сутки на — 23,9% ($p < 0,001$), на 3-и сутки — на 22,4% ($p < 0,001$), а к 21-ым суткам — 13,8% ($p < 0,05$). Эти данные свидетельствуют о развитии гипоксии, в связи с чем представлялось важным оценить характер изменения кислородсвязующих свойств гемоглобина при данном термическом поражении.

На 1-ые сутки после термического ожога величина стандартного p50 увеличивалось по отношению к контролю на 7,5% ($p < 0,05$), на 3-и сутки на 9,5% ($p < 0,01$) и еще более значительно повышалось на 7-ые сутки (на 11,2%, $p < 0,01$), а к 14-ым суткам его прирост составил 4,7% ($p < 0,05$), что в целом свидетельствует об уменьшении СГК. На 21-ые сутки значения $\text{p50}_{\text{станд}}$ приближалось к значению контроля. Учитывая реальные значения pH, pCO_2 и температуры тела характер изменения СГК оказался следующим. Так, реальное значение p50 по отношению к контролю в 1-ые сутки возросло на 20,8% ($p < 0,001$). На 3-и сутки прирост данного показателя достигал максимального значения и составил 31,3% ($p < 0,001$), что указывает на максимальное смещение КДО вправо (рис. 2). На 7-ые и 14-ые сутки $\text{p50}_{\text{реал}}$ также остается увеличенным (25,7% и 13,3%, соответственно), отражая более значительное снижение СГК. На 21-ые сутки значение $\text{p50}_{\text{реал}}$ составило 31,7 (31,2; 32,2) мм рт.ст., приближаясь к значению контроля.

В этом исследовании была также проведена оценка содержания продуктов утилизации NO (нитрат/нитритов). Наиболее выраженный рост его концентрации (рис. 3) отмечался на 3-и сутки (134,3 %, $p < 0,001$) и сохранялся увеличенным на 7-ые (101,2 %, $p < 0,01$), 14-ые (58,5%, $p < 0,001$) и 21-ые сутки (23,5%, $p < 0,01$), что свидетельствует о росте активности L-аргинин-NO системы.

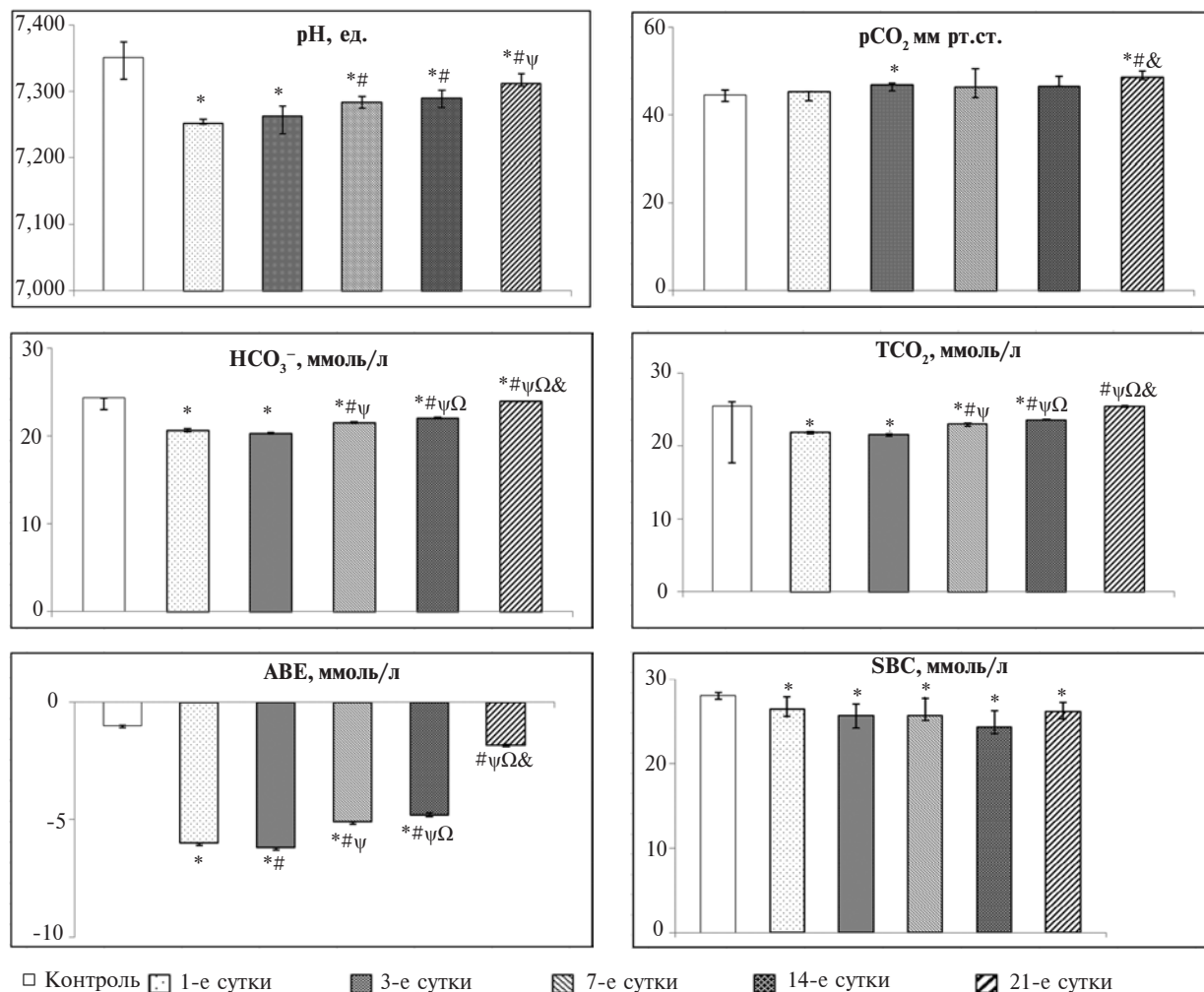


Рис. 1. Основные показатели кислотно-основного состояния крови у крысят после термического ожога, Me (25-75%).

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю (p<0,05) — *, к 1-м суткам (p<0,05) — #, к 3-м суткам (p<0,05) — ψ, к 7-м суткам (p<0,05) — Ω, к 14-м суткам после ожоговой травмы (p<0,05) — &.

Таблица 1

Изменение кислородтранспортной функции крови у крысят после термического ожога, Me (25-75%)						
Параметр	Контроль	После ожоговой травмы				
		1-ые сутки	3-и сутки	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки
n	9	9	9	9	9	9
p50 _{реал} , мм рт.ст.	31,34 (29,5; 32,5)	37,8* (35,6; 39,0)	41,1*# (39,1; 42,9)	39,4* (38,4; 40,3)	35,5* ψ Ω (34,8; 36,4)	31,7# ψ Ω& (31,2; 32,2)
p50 _{станд} , мм рт.ст.	29,5 (27,7; 30,8)	31,7* (31,6; 33,4)	32,3* (29,8; 32,9)	32,8* (31,9; 33,7)	30,9* (30,0; 33,8)	28,6# ψ Ω& (27,8; 29,0)
Напряжение кислорода, мм рт.ст.	37,0 (35,0; 38,0)	27,0* (26,0; 28,0)	28,0* (24,0; 29,0)	31,0*#ψ (30,0; 32,0)	34,0# ψ (31,0; 35,0)	36,0# ψ Ω (32,0; 36,0)
Гемоглобин, г/л	113 (110; 116)	109 (108; 111)	107 (105; 109)	105,0* (103; 109)	109 (107; 110)	110 ψ Ω (108; 114)
Метгемоглобин, %	0,11 (0,1; 0,13)	0 (0; 0,3)	0,4 (0; 0,9)	0,5 (0; 0,6)	0,2 (0,1; 0,4)	0,1 (0; 0,5)
Насыщение крови кислородом, %	45,5 (43,6; 47,5)	34,6* (32,6; 35,5)	35,3* (34,8; 35,7)	35,2* (34,8; 37,1)	37,7*# ψ (36,7; 38,6)	39,2*# ψ Ω (38,2; 40,0)

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю (p<0,05) — *, к 1-м суткам (p<0,05) — #, к 3-м суткам (p<0,05) — ψ, к 7-м суткам (p<0,05) — Ω, к 14-м суткам (p<0,05) — &.

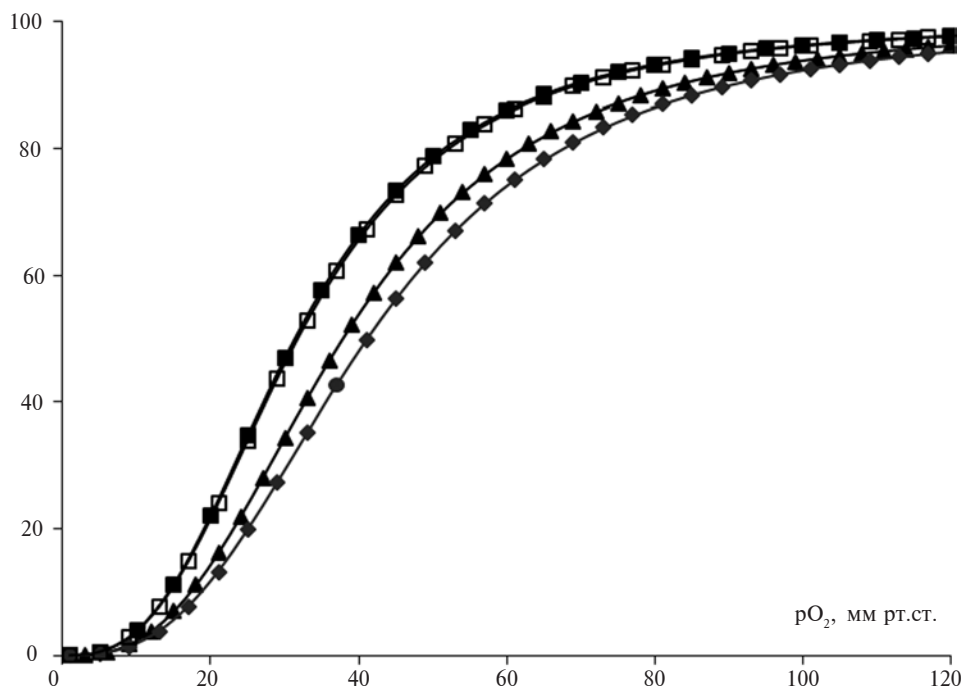


Рис. 2. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, $p\text{CO}_2$ и температуры у экспериментальных животных после термического ожога на 1-е сутки (▲), на 3-е сутки (♦), на 21-е сутки (□), контроль (■).

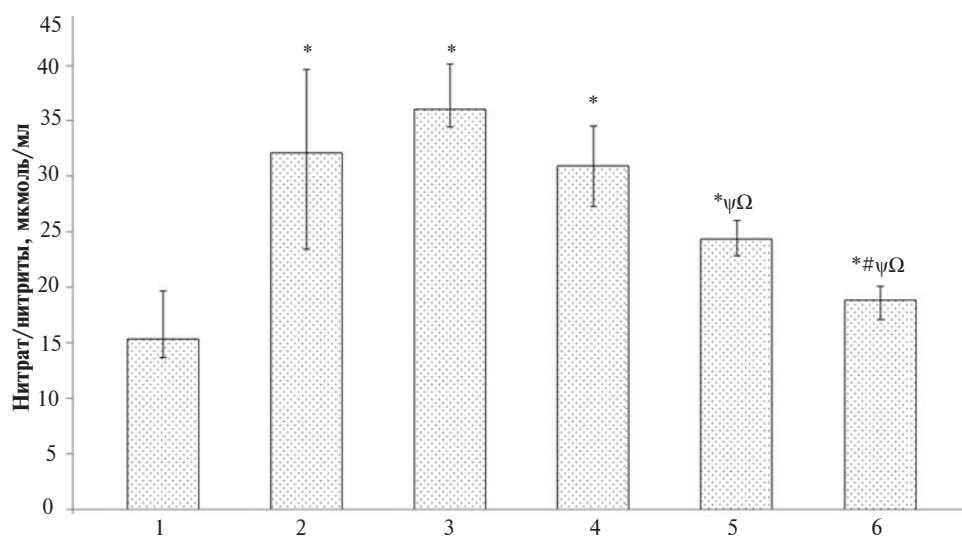


Рис. 3. Изменения концентрации нитрат/нитритов в плазме крови у животных после термического ожога, Me (25-75%). 1 – контроль, 2 – 1-ые сутки, 3 – 3-ие сутки, 4 – 7-ые сутки, 5 – 14-ые сутки, 6 – 21-ые сутки. Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$) – *, к 1-м суткам ($p < 0,05$) – #, к 3-м суткам ($p < 0,05$) – ψ , к 7-м суткам ($p < 0,05$) – Ω , к 14-м суткам после ожоговой травмы ($p < 0,05$) – &.

Через сутки после создания термической травмы наблюдался значительный подъем концентрации ДК в печени на 247,4% ($p < 0,001$), в легком – на 135,0% ($p < 0,001$), в сердце – на 151,1% ($p < 0,001$), в почке – на 111,1 % ($p < 0,001$) по отношению к контрольным величинам (таблица 2). Уровень данных первичных продуктов ПОЛ на 3-и, 7-ые, 14-ые сутки во всех исследуемых тканях остался также увеличенным, а на 21-ые сутки приблизился к контрольным цифрам. Содержание

МДА в тканях на 1-е сутки также возрастало в печени с 8,21 (7,36; 8,88) до 16,67 (16,29; 17,32), $p < 0,001$, мкмоль/г, в легком с 18,39 (17,15; 19,04) до 35,84 (29,39; 36,80), $p < 0,001$, мкмоль/г, в сердце с 16,07 (15,34; 16,30) до 36,38 (35,80; 36,76), $p < 0,001$, мкмоль/г, в почке с 14,88 (13,11; 15,86) до 33,27 (32,99; 34,05), $p < 0,001$, мкмоль/г (рис. 4). Данный параметр на 3-и, 7-ые, 14-ые и 21-ые сутки после воспроизведения ожога в этих тканях оставался увеличенным в сравнении с контролем.

Таблица 2

**Содержание диеновых конъюгатов в гомогенатах тканей крыс
после моделирования термического ожога, Ме (25-75%)**

Параметр		Контроль	После ожоговой травмы				
			1-ые сутки	3-и сутки	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки
n		9	9	9	9	9	9
ДК, $\Delta D_{233}/\text{г}$ ткани	печень	11,40 (9,16; 12,54)	39,60* (35,12; 42,82)	25,52*# (19,36; 25,74)	18,70*# (15,84; 21,0)	15,62*# (15,50; 19,68)	12,10*# ψ (11,16; 16,94)
	почка	6,30 (6,08; 7,62)	13,30* (11,90; 15,62)	10,52*# (9,84; 11,44)	9,90*# (9,30; 9,96)	9,30*# (7,48; 10,42)	7,74*# ψ (7,30; 8,30)
	легкое	6,96 (6,30; 8,64)	16,36* (13,86; 17,38)	14,08* (13,86; 19,14)	9,68 (9,52; 12,20)*# ψ	9,52*# ψ (9,30; 11,72)	8,08*# ψ & (7,52; 9,28)
	сердце	4,62 (4,18; 6,16)	11,66* (9,46; 14,18)	10,34* (9,68; 11,82)	9,46 (9,16; 12,88)	7,92*# ψ & (6,30; 9,46)	6,30*# ψ & (6,08; 7,26)

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$) – *, к 1-м суткам ($p < 0,05$) – #, к 3-м суткам ($p < 0,05$) – ψ , к 7-м суткам ($p < 0,05$) – Ω , к 14-м суткам после ожоговой травмы ($p < 0,05$) – &.

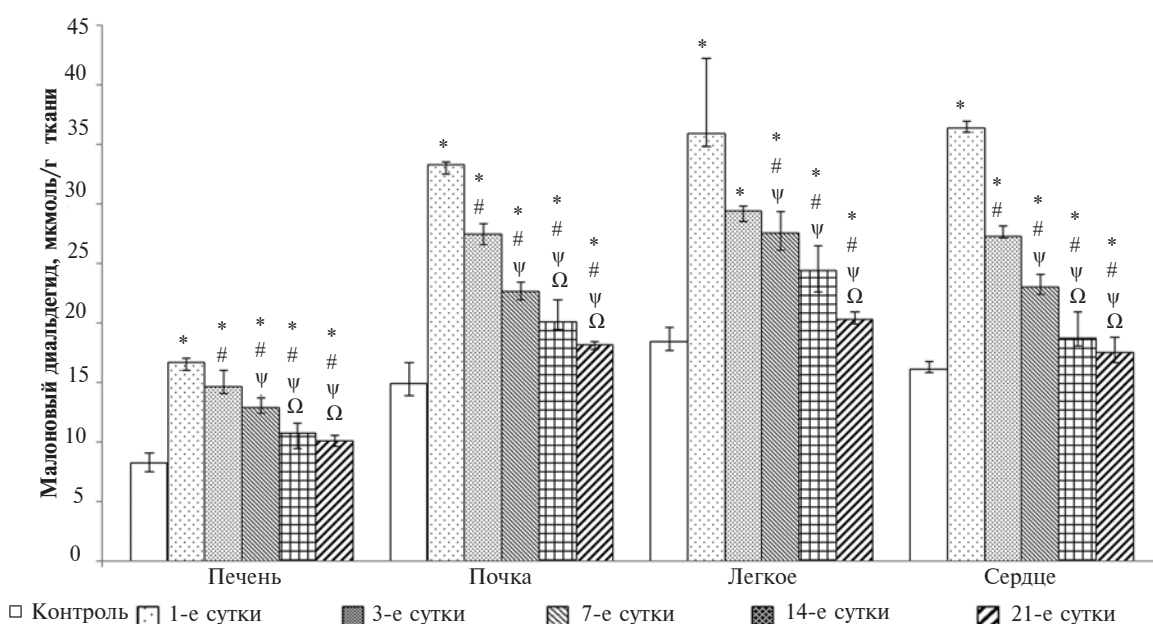


Рис. 4. Содержание малонового диальдегида в тканях после моделирования термического ожога на 1-е сутки (2), на 3-е сутки (3), на 7-е сутки (4), на 14-е сутки (5) на 21-е сутки (6), контроль (1), Ме (25-75%).

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$) – *, к 1-м суткам ($p < 0,05$) – #, к 3-м суткам ($p < 0,05$) – ψ , к 7-м суткам ($p < 0,05$) – Ω , к 14-м суткам после ожоговой травмы ($p < 0,05$) – &.

На фоне возросшей активности процессов ПОЛ отмечалось значительное угнетение АОЗ. Содержание α -токоферола (таблица 3) в 1-е сутки снижалось в печени на 52,8% ($p < 0,001$), в почках на 37,8% ($p < 0,001$), в легком на 48,6% ($p < 0,001$), в сердце на 58,6% ($p < 0,001$) по отношению к контролю. Его уровень к 3-им суткам во всех тканях сохранялся сниженным по отношению к контролю, но был выше, чем на 1-ые сутки. На 7-ые, 14-ые и 21-ые сутки после ожога, вследствие уменьшения активности процессов ПОЛ во всех исследованных тканях, происходило увеличение уровня α -токоферола в сравнении с 1-ми сутками, но сохранялось сниженным по отношению к контролю.

В результате термического ожога активность каталазы в тканях (рис. 5) на 1-ые сутки снижалась: в печени с 14,35 (13,23; 15,99) до 10,32 (9,77; 10,79), $p < 0,01$, ммоль/мин на 1 г белка, в почке с 15,63 (14,97; 15,71) до 11,26 (10,98; 11,49), $p < 0,001$, ммоль/мин на 1 г белка, в легком с 2,35 (2,31; 2,53) до 1,97 (1,91; 2,08), $p < 0,01$, ммоль/мин на 1 г белка, в сердце с 2,46 (2,26; 2,66) до 1,66 (1,34; 1,94), $p < 0,001$, ммоль/мин на 1 г белка по отношению к контролю. Снижение активности каталазы наблюдалось на 3-и и 7-ые сутки в сравнении с контролем в почке, легком, сердце, а в печени приближалось к его значению. Отмечалось снижение данного параметра на 14-ые сутки в почке на 13,2% ($p < 0,01$) в сравнении с кон-

тролем. В печени, легком, сердце достоверных различий не выявлено. На 21-ые сутки активность каталазы в печени, почках, сердце были на уровне контроля, а в легком увеличивалось на 19,1% ($p < 0,01$).

Обсуждение

Полученные в ходе данного эксперимента результаты по моделированию термического ожога свидетельствуют о развитии декомпенсированного метаболического ацидоза, наиболее выраженного на 1-е сутки и сохраняющегося в меньшей степени на протяжении последующих 21-ых суток. Также при этом отмечаются существенные нарушения со стороны механизмов транспорта кислорода кро-

вью. В условиях возникающей гипоксии при термическом воздействии наблюдаются явления метаболического ацидоза, приводящего к нарушениям микроциркуляции и усилению дефицита доставляемого кислорода к периферическим тканям, и, таким образом, усиление самой причины ацидоза.

Термическая травма является классическим примером воздействия стрессорного раздражителя на организм, вызывающего формирование типовых реакций дезадаптации в виде активации симпатoadренальной системы, с последующим развитием спазма периферических сосудов, а также сосудов ряда внутренних органов и тканей, что приводит к развитию не только локальной, но и системной циркуляторной гипоксии. В нормальных условиях уве-

Таблица 3

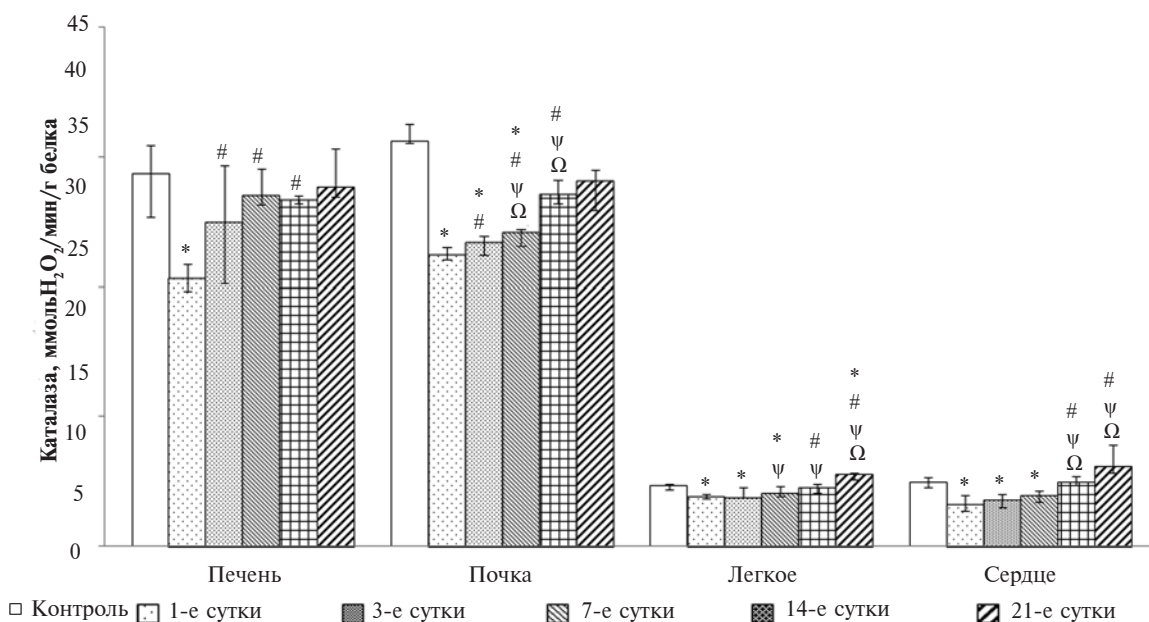
Содержание уровня α -токоферола в тканях крыс после воспроизведения термического ожога, Ме (25-75%)

Параметр	Контроль	После ожоговой травмы					
		1-ые сутки	3-ые сутки	7-ые сутки	14-ые сутки	21-ые сутки	
n	9	9	9	9	9	9	
α -токоферол, мкмоль/г ткани	печень	126,74 (125,99; 129,13)	59,83* (55,90; 67,30)	72,78*# (65,52; 74,34)	75,11*# (66,20; 90,72)	83,19*# (78,27; 84,16)	93,47*#ψ& (90,64; 95,36)
	почка	100,76 (97,77; 105,14)	62,65* (53,87; 64,76)	69,78*# (66,54; 70,92)	75,08*#ψ (73,40; 76,17)	84,55*#ψ Ω (83,36; 86,99)	89,82*#ψ Ω (88,63; 92,50)
	легкое	120,3 (118,58; 121,16)	61,78* (57,54; 63,97)	69,71*# (64,76; 73,11)	86,28*#ψ (84,95; 86,40)	91,10*#ψ Ω (86,50; 91,37)	100,11*#ψ Ω& (96,35; 102,66)
	сердце	111,64 (111,28; 116,01)	46,24* (44,55; 48,45)	55,21*# (53,77; 58,06)	68,21*#ψ (65,42; 69,39)	80,39*#ψ Ω (76,43; 82,04)	90,33*#ψ Ω& (88,93; 93,21)

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$) — *, к 1-м суткам ($p < 0,05$) — #, к 3-м суткам ($p < 0,05$) — ψ, к 7-м суткам ($p < 0,05$) — Ω, к 14-м суткам после ожоговой травмы ($p < 0,05$) — &.

Рис. 5. Активность каталазы в тканях после воспроизведения термического ожога, Ме (25-75%)

Примечание: изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$) — *, к 1-м суткам ($p < 0,05$) — #, к 3-м суткам ($p < 0,05$) — ψ, к 7-м суткам ($p < 0,05$) — Ω, к 14-м суткам после ожоговой травмы ($p < 0,05$) — &.



личение потребления кислорода тканями при неизменной его доставке обеспечивается более полной экстракцией кислорода, улучшением его отдачи клеткам, вследствие изменения положения КДО, а также усиленной перфузией тканей, но при критических состояниях, в том числе и при ожоговой травме, процесс утилизации кислорода становится более зависимым от механизмов доставки кислорода. Ухудшение кислородтранспортной функции крови, в частности, деформируемости эритроцитов, сопровождается активацией процессов липопероксидации и недостаточностью антирадикальной защиты.

Как видим, из проведенных нами исследований, у крысят, перенесших термический ожог, отмечается активация свободнорадикальных процессов в острый период и приближающихся к значению контроля на 21-ые сутки. Наряду с этим происходит угнетение механизмов АОЗ, вследствие данного дисбаланса происходит развитие окислительного стресса.

Так, в эксперименте на мышах весом 18-25 г, у которых контактным методом (температура 100° С, экспозиция 10 сек) создавали ожог площадью 30%, III а-б степени, установлено, что в острый период увеличивается активность процессов ПОЛ, а уровень супероксиддисмутазы в первые сутки снижается, а на 3-и сутки данный показатель увеличивается, и к 10-ым суткам вновь снижается [13]. В экспериментах по созданию термического ожога на морских свинках-самцах А.В. Поликарпов, Е.Э. Перский [14] показали, что через 1 час после термического воздействия на фоне выраженной воспалительной реакции наблюдается повышение концентрации как МДА и ДК, так и активности каталазы и супероксиддисмутазы в крови и в пораженном участке кожи, но через 1 сутки концентрация МДА и ДК продолжает расти, достигая максимального значения, а через 7 суток после воздействия снижается.

Следует обратить внимание, что у взрослых пациентов, погибших на фоне обширных ожогов, активация ПОЛ и истощение системы АОЗ были связаны как с выраженными нарушениями газообмена, транспорта кислорода, так и метаболизма. Как известно, скорость диссоциации оксигемоглобина определяется СГК, формирует капиллярно-тканевый градиент pO_2 , задат условия диффузии кислорода в ткани и определяет величину тканевого O_2 , что также имеет значение и для формирования должного прооксидантно-антиоксидантного равновесия [15]. Наши экспериментальные данные демонстрируют, что при термическом ожоге происходящее смещение КДО вправо,

увеличивая поток кислорода в ткани, способствует росту активности свободнорадикального окисления липидов. По мере уменьшения тяжести термического поражения проявление гипоксии и окислительного стресса ослабевают.

Следует отметить, что при данном состоянии также отмечается повышенное содержание монооксида азота (NO) в плазме крови животных, вклад которого может быть различным. Так, известно, что повышенное образование NO нивелируется умеренным ростом кислородных радикалов и оказывает защитный эффект, а при высоком образовании радикалов, по отношению к нему, развиваются повреждающие эффекты. Показана роль метаболитов монооксида азота в механизмах развития экспериментальной ожоговой раны, что подтверждается повышением их содержания в очаге (28-ые сутки) и периферической крови (14-ые сутки) с одновременным резким снижением количества SH-групп [16]. Очевидно, чрезмерное образование NO при термическом воздействии участвует в нарушениях как кислородтранспортной функции крови, так и прооксидантно-антиоксидантного баланса, приводя в конечном итоге к развитию окислительного стресса, важнейшего компонента в патогенезе термической травмы.

Таким образом, тяжелая термическая травма приводит к системным нарушениям функционирования организма, в частности, газотранспортной функции крови, и генерации большого количества активированных форм кислорода, ведущая к образованию продуктов ПОЛ и нарушению L-аргинин-NO системы, что, в свою очередь, приводит к развитию окислительного стресса. Учитывая вышеизложенное, представляется целесообразным оценка кислородзависимых механизмов при термическом ожоге у крысят для разработки путей коррекции данной патологии.

Выводы

1. Моделирование термической травмы с площадью ожога 8-9% от всей поверхности тела и экспозиции 10 сек у крысят (возраст 30 суток) приводит к развитию гипоксии, судя по возникновению метаболического ацидоза и уменьшения значений pO_2 и SO_2 в венозной крови. В генезе нарушений кислородного обеспечения имеет значение кислородсвязующие свойства крови, в частности изменение СГК на протяжении первых 14 суток.

2. В данной модели создания термического ожога у крысят на протяжении 14 су-

ток отмечается увеличение содержания ДК и МДА в тканях печени, легкого, почки, сердца, а также уменьшение активности каталазы и уровня α -токоферола в данных тканях, что свидетельствует о развитии окислительного стресса, проявление которого уменьшается к 21-ым суткам.

3. При данном состоянии наблюдается увеличение содержания нитрат/нитритов, отражая нарушения функционирования L-аргинин-NO системы, обуславливая изменения кислородсвязующих свойств крови и формируя проксидантно-антиоксидантный дисбаланс. Проведенные исследования свидетельствуют о важной роли кислородзависимых процессов в патогенезе термической травмы детского возраста, что необходимо учитывать при разработке соответствующих мероприятий, направленных на устранение нарушений данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Летальные исходы ожоговой болезни у детей: 18-летний опыт работы / С. П. Сахаров [и др.] // Скорая мед. помощь. — 2011. — № 3. — С. 52–57.
2. Содержание липидов сыворотки крови при обширных ожогах у детей разного возраста / С. А. Артемьев [и др.] // Бюл. сиб. медицины. — 2008. — Т. 7, № 4. — С. 93–98.
3. Ушакова Т. А. К вопросу о перекисном окислении липидов у больных с ожоговой травмой / Т. А. Ушакова // Комбустиология [Электронный ресурс]. — 2008. — № 2. — Режим доступа : <http://burn.ru>. — Дата доступа : 20.12.2012.
4. Устройство для моделирования ожоговой раны у лабораторного животного : пат. 7927 Респ. Беларусь / А. В. Глуткин, Т. В. Ковальчук, В. И. Ковальчук ; заявитель Гродн. гос. мед. ун-т. — № u 20110576 ; заявл. 15.07.11 ; опубл. 28.02.12 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. — 2012. — № 1. — С. 256.
5. Gilpin D. A. Calculation of a new Meeh constant and experimental determination of burn size / D. A. Gilpin // Burns. — 1996 Dec. — Vol. 22, N 8. — P. 607–11.
6. Предохранительная камера для экспериментального исследования ожоговой раны у лабораторного животного : пат. 7926 Респ. Беларусь / А. В. Глуткин, Т. В. Ковальчук, В. И. Ковальчук ; заявитель Гродн. гос. мед. ун-т - № u 20110577 ; заявл. 15.07.11 ; опубл. 28.02.12. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. — 2012. — № 1. — С. 256–57.
7. Severinghaus J. W. Blood gas calculator / J. W. Severinghaus // J Appl Physiol. — 1966 May. — Vol. 21, N 3. — P. 1108–16.
8. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33–36.
9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В.С. Камышников. — 2-е изд. — Минск : Беларусь, 2002. — Т. 1. — 465 с.
10. Taylor S. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S. L. Taylor, M. P. Lamden, A. L. Tappel // Lipids. — 1976 Jul. — Vol. 11, N 7. — P. 530–38.
11. Метод определения активности каталазы / М. А. Корольюк [и др.] // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
12. Bryan N. S. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples / N. S. Bryan, M. B. Grisham // Free Radic Biol Med. — 2007 Sep. — Vol. 43, N 5. — P. 645–57.
13. Тарасов А. Е. Влияние «тинростима» на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему при ожоговой болезни в эксперименте / А.Е. Тарасов // Соврем. наукоемкие технологии. — 2005. — № 8 — С. 72.
14. Порівняльні вивчення динаміки перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи при опіках різної природи / Г.В. Полікарпова // Вісн. Харків. нац. ун-ту ім. В. Н. Каразіна. Сер. біологія. — 2009. — Вип. 10, № 878. — С. 40–47.
15. Зинчук В. В. Кислородсвязывающие свойства крови. — Lap Lambert Academic Publishing, 2012. — 167 с.
16. Роль метаболитов оксида азота в механизмах развития экспериментального ожога / Т. В. Звягинцева [и др.] // Эксперим. и клин. медицина. — 2011. — № 2. — С. 5–9.

Адрес для корреспонденции

210009, Республика Беларусь,
г. Гродно, ул. Горького, д. 80,
УО «Гродненский государственный
медицинский университет»,
кафедра детской хирургии,
тел. моб.: +375 33 32-56-560,
e-mail: glutkinalex@mail.ru,
Глуткин Александр Викторович

Сведения об авторах

Глуткин А.В., аспирант кафедры детской хирургии

УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Поступила 23.04.2013 г.